



www.rivistadiagraria.org

Riviste anno 2012 -> N. 156 - 15 novembre 2012

Orto del Gethsemani: le otto piante più studiate al mondo

F. Marino, G. Gianfrate, A. Cimato, R. Testolin, M. Bernabei, A. Materazzi, S. Tegli, C. Giordano, A. Cichelli, A.N. Mignani, L. Ciaccheri, C. Gonnelli, S. Pignatelli.

L'Associazione "COLTIVIAMO LA PACE" di Firenze e per essa il Prof. Giovanni Gianfrate, in accordo con la Custodia di Terra Santa, nel 2009 ha promosso il progetto: **LA MEMORIA DI UN AMBIENTE: "IL GIARDINO DEL GETHSEMANI"**. La proposta ha trovato la favorevole adesione di AgronomiperlaTerra e Copagri (Confederazione Produttori Agricoli) che con l'iniziativa "Adottiamo gli Ulivi del Gethsemani", ha partecipato al finanziamento.

Organizzazione del Progetto

La richiesta dell'Associazione "COLTIVIAMO LA PACE" di Firenze era diretta a sviluppare uno studio per approfondire ed aggiornare le conoscenze delle 8 piante di ulivo secolari riunite nel «GIARDINO DEL GETHSEMANI» in Gerusalemme e per promuovere attività di sostegno salvaguardia delle stesse piante. Con tutta evidenza il progetto, di straordinaria rilevanza per le aspettative scientifiche, culturali e religiose richiedeva competenze interdisciplinari che sono state identificate all'interno di 5 dipartimenti universitari [*Scienze Agrarie ed Ambientali di Udine; Biologia Evoluzionistica "Leo Pardi" e Biotecnologie Agrarie di Firenze; Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali, di Pisa; Istituto per la Valorizzazione del Legno e delle Specie Arboree; (Ivalsa) San Michele all'Adige (Trento); Laboratorio di Merceologia, Università Chieti - Pescara*] e 3 Istituti del Consiglio Nazionale delle Ricerche nel Polo scientifico di Sesto Fiorentino (Firenze): *Istituto per la Valorizzazione del Legno e delle Specie Arboree; Istituto di Fisica Applicata 'Nello Carrara'; Istituto di Chimica dei Composti Organo Metallici (Centro di Microscopia Elettronica)*.

Obiettivi del progetto

- Profilo Genetico
- Stima dell'Età delle Piante
- Verifica dello Stato Fitosanitario
- Accertamento dello Stato Nutrizionale
- Descrizione delle Caratteristiche Micromorfologiche
- Valutazione Merceologica, Qualitativa e Nutrizionale dell'Olio
- Caratteristiche Fisico-chimiche dell'Olio
- Valutazione dell'Ambiente Eco-fisiologico del «Gethsemani»

Nel maggio 2009, con il primo sopralluogo, sono iniziate le attività progettuali con il prelievo, da ciascuna delle 8 piante, di campioni di fiori, rami, foglie e radici.

Il secondo sopralluogo è stato organizzato ad agosto 2010. Gli esperti hanno ispezionato la chioma e il tronco degli 8 ulivi e selezionate 3 piante per la [*Stima della datazione epigea*]. Su di esse è stata condotta una prima valutazione di tipo geometrico, auxologico e dendrometrico e successivamente prelevati piccoli frammenti di legno, nella parte più interna del tronco, necessari per poter integrare la datazione dendrocronologica con la datazione realizzata con la tecnica radiometrica (radiocarbonio). Nell'ottobre 2011, una ulteriore visita al "GIARDINO" ha permesso di completare "in situ" la: [*Descrizione dei caratteri morfologici delle singole piante*]; di eseguire la raccolta dei frutti dalle 8 piante per estrarre l'olio e eseguire la: [*Valutazione merceologica, qualitativa, nutrizionale e delle caratteristiche fisico-chimiche dell'olio*] e di prelevare, in zone diverse della rizosfera, campioni di radici e terreno per: [*Valutare l'ambiente ecofisiologico del «GIARDINO DEL GETHSEMANI»*].

Profilo Genetico

L'analisi della variabilità genetica all'interno di una specie, popolazione o comunità ecologica, può essere effettuata mediante l'uso di tecniche biomolecolari capaci di rilevare le mutazioni di regioni di DNA omologhe in individui diversi. L'analisi del polimorfismo richiede l'identificazione di specifiche

regioni di DNA (loci) che caratterizzano in modo univoco l'individuo a cui appartengono.

Per l'analisi genetica delle 8 piante di ulivo sono state utilizzate 14 regioni di DNA microsatellite (SSR) che al momento rappresentano gli strumenti di caratterizzazione molecolare più efficaci e sicuri perché altamente polimorfici e riproducibili. Essi consentono di ottenere profili semplici, con una o due forme alleliche per ciascuna varietà. Varietà imparentate tra loro avranno

profili molto simili ma mai identici, mentre alberi diversi della stessa varietà, trattandosi sempre dello stesso genotipo moltiplicato per via vegetativa (talea, innesto, ovolo, ecc.), avranno tutti lo stesso profilo. Per descrivere il profilo genetico sono stati analizzati due campioni di foglie per ciascuna pianta, prelevati in parti diverse della chioma.

Le analisi di alcune regioni del DNA, hanno descritto per tutte le 8 piante "profili simili" tra gli individui e non sono state evidenziate differenze nei profili allelici, nemmeno tra campioni di foglie prelevate dalle diverse parti della chioma. Queste osservazioni possono far intendere che le 8 piante siano state prodotte per moltiplicazione vegetativa della stessa varietà il cui riconoscimento per ora non è stato previsto dallo studio. Da questi risultati emerge l'ipotesi che le piante siano state propagate per pollone prelevato da un'unica pianta madre.

Stima dell'età delle piante

L'analisi si è proposta di fornire una assunzione storica, quanto possibile precisa, di stima dell'età delle piante e stabilire se la parte epigea degli ulivi sia riferibile a uno stesso periodo sia proveniente da interventi di piantagione inquadrati in una data storica precisa. La tecnica maggiormente accreditata per la datazione del legno è la "dendrocronologia". Il primo intervento degli esperti ha evidenziato che, nel tempo, la zona centrale del tronco ha subito parziali ed in alcuni casi profondi danneggiamenti, per cui non era eseguibile in tutte le otto piante la datazione del legno con la esclusiva tecnica della "dendrocronologia". Così è stato deciso di integrare la datazione dendrocronologica con la tecnica radiometrica (radiocarbonio) della parte di tronco tutt'oggi presente (tecnica realizzata con il metodo del *Wiggle matching*).

La tecnica radiometrica è impostata sulla misura della concentrazione dell'isotopo ^{14}C (Stuiver e al., 1977) in piccoli frammenti di legno prelevati nella parte centrale del fusto (area midollare) e nella posizione più bassa e antica del tronco (in prossimità del terreno). Per la stima dell'età sono state individuate le piante 1, 4 e 7 che presentavano condizioni essenziali per lo studio. La scelta di utilizzare due campioni per pianta è stata dettata dalla necessità di imporre un vincolo alle elaborazioni statistiche (Bernabei et al., 2007; Bernabei M., 2009 *Radiocarbon (14C) dati ng. In: "Scientific Examination for the Investigation of Paintings. A Handbook for Conservator-restorers."* Edited by D. Pinna, M. Galeotti, R. Mazzeo. Firenze. ISBN 978-88-7038-474-1); il Campione 1, prelevato nella zona più vicina al midollo, deve necessariamente essere più antico del Campione 2, prelevato in direzione della corteccia.

I campioni delle piante 4 e 7 sono stati spediti a due diversi laboratori per la datazione al ^{14}C : il CEDAD (Center for Dating and Diagnostics), University of Salento, Lecce Italia, e il VERA (Vienna Environmental Research Accelerator), Wien, Austria. I campioni della pianta n. 1 sono stati inviati soltanto al CEDAD. Si tratta di laboratori selezionati tra quelli accreditati a livello internazionale secondo la lista riportata dalla rivista Radiocarbon (<http://www.radiocarbon.org/>).

Per completare la datazione ottenuta dall'esame al ^{14}C , che è riferita al solo legno tuttora presente, e per ottimizzare l'analisi, con l'aggiunta del numero di anni corrispondenti al tratto del tronco radiale mancante fino al midollo, è stato misurato il tasso medio di accrescimento annuo per pianta, espresso in cm/anno, e applicato al tratto di legno mancante. Tale dato è stato poi confrontato con quello ottenuto dalle misurazioni sull'albero di ulivo piantato nel Gethsemani nel 1964, in occasioni della visita di sua Santità Papa Paolo VI.

Dalla somma delle due età (quella del legno "presente" e quella del legno "mancante") si è giunti alla datazione della parte "epigea" dei tre ulivi centenari.

La datazione al ^{14}C , completata con la stima della porzione radiale di legno mancante, fa convergere i risultati intorno al secolo XII e lascia pochi dubbi che la parte epigea dei tre ulivi sia riferibile a uno stesso periodo e si possa inquadrare in una data storica precisa. I risultati ottenuti dai due laboratori sono sostanzialmente analoghi. Le differenze tra le date si aggirano intorno a 20 anni. L'intervallo di confidenza medio delle datazioni è di ± 45 anni, che corrisponde a un periodo complessivo di 90 anni, ampio ma che non influisce in maniera sostanziale sui nostri obiettivi. Per le tre piante, alle quali è stato possibile applicare questa moderna metodologia, la datazione risulta essere la seguente:

Pianta n° 1 (**1.198 anni**); Pianta n° 4 (**1.092 anni**); Pianta n° 7 (**1.166 anni**).

Verifica stato fitosanitario

Da campioni di rametti di età e dimensione diversa, prelevati dagli otto ulivi, sono stati ottenuti 3 g di tessuto floematico sui quali sono state condotte le indagini fitovirologiche. Per lo studio sono state utilizzate due tecniche diagnostiche di natura biomolecolare: (a) l'amplificazione genica (RT-PCR), virus-specifica, che ha lo scopo di evidenziare, nelle piante testate, l'eventuale presenza dei 9 singoli agenti virali più frequentemente segnalati nell'olivo; (b) l'analisi della doppia catena dell'acido ribonucleico (ds-RNA), metodo diagnostico di carattere aspecifico che rivela la presenza di doppie eliche di acido ribonucleico (RNA), che sono rivelatrici di infezioni virali in atto.

I test hanno evidenziato che *nessuna delle 8 piante* saggiate era infetta da almeno uno dei 9 virus ricercati. Anche la seconda verifica, relativa al ds-RNA, per accertare se le piante fossero infette da altri 5 virus o agenti virali non ancora segnalati in olivo, ha confermato per tutti i campioni l'assenza di infezioni virali in atto. Da questi risultati si evince che per gli 8 ulivi esiste una condizione fitovirologica di "eccellenza" per cui al momento non esistono cause che possano ridurre la loro longevità o rendere le piante meno produttive più suscettibili ad altre alterazioni biotiche ed abiotiche.

La verifica delle condizioni sanitarie delle piante è stata completata con esami *microbiologici* e *molecolari* su materiale vegetale (rami di età diversa, foglie e radici) per verificare la presenza di batteri, funghi e nematodi, agenti dannosi allo sviluppo vegetativo e produttivo degli ulivi.

I risultati di laboratorio hanno attestato che *in nessuna delle otto piante*, il materiale epigeo (rami e foglie) presenta sintomi riconducibili ad infezioni attive da parte di «*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*», agente della Rogna dell'olivo. Sulle foglie delle piante indicate in planimetria con i numeri 1, 4 e 6 è stata rilevata la presenza di «*fumaggine*», causata da varie specie fungine saprofitiche ed ubiquitarie. Infine le analisi condotte su campioni di radici non hanno evidenziato alterazioni causate dalla presenza di «*nematodi*». Anche l'estrazione delle forme mobili, tramite il metodo dei setacci, non ha condotto al rinvenimento di nematodi delle specie *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, *Pratylenicus vulnus* (nematodi endogeni dell'olivo) e/o *Xiphinema diversicaudatum*. Complessivamente gli esami permettono di affermare che gli 8 ulivi non presentano fenomeni fitopatologici conclamati con rischi per la salute stessa delle piante.

Accertamento dello stato nutrizionale

Le condizioni nutrizionali delle singole piante sono state chiarite attraverso la determinazione della composizione in elementi minerali (macro e micro elementi) nei tessuti fogliari. Questo accertamento è stato considerato utile anche per poter fornire suggerimenti nelle operazioni di gestione agronomica e di tecnica colturale necessari alla tutela degli 8 ulivi e al mantenimento sostenibile dell'ecosistema che il Giardino del Gethsemani rappresenta.

L'analisi fogliare, realizzata sui campioni di foglie raccolte da ciascuna pianta nel maggio 2009, ha offerto la possibilità di riconoscere che, in generale, le piante confermano un discreto stato nutrizionale che non sono presenti sintomi di carenze particolari. La tabella (Tab. 1) riassume i valori medi (%) di quattro diversi nutrienti, chiarisce la presenza nelle foglie di adeguati valori per azoto, calcio e potassio mentre, i livelli di fosforo si debbono ritenere ai limiti della sufficienza.

N° PIANTA	% ELEMENTO			
	Azoto	Calcio	Fosforo	Potassio
1	1,37	1,25	0,037	0,84
2	1,58	1,99	0,058	0,62
3	1,53	1,28	0,053	0,59
4	1,42	2,58	0,042	1,06
5	1,64	1,53	0,064	0,97
6	1,55	2,65	0,055	0,77
7	1,76	1,71	0,076	0,88
8	1,64	1,47	0,064	0,63

Tab. 1 - Valori medi (%) di N, Ca, P, K in campioni di foglie

Descrizione delle Caratteristiche Micromorfologiche

Campioni di fiori, frutti, olive e noccioli, raccolti da ciascuna delle otto piante storiche, sono stati sottoposti ad analisi tramite Microscopio Elettronico a Scansione Ambientale (ESEM), che fornisce immagini tridimensionali in bianco e nero, con una risoluzione di 10 nm.

Questo ha permesso di ampliare le informazioni relative alle caratteristiche micromorfologiche, specificità rilevabile sulle superfici del frutto, delle foglie, dell'endocarpo e degli organi fiorali. I campioni osservati non presentano particolari modifiche a livello anatomico, cellulare e ultrastrutturale in risposta a stress "abiotici" (salino, idrico, raggi UV, ecc).

Valutazione merceologica, qualitativa e nutrizionale dell'olio

Le produzioni di olio ottenute nel novembre 2010 e 2011 sono state analizzate per determinare i valori rispondenti alle caratteristiche, merceologiche, qualitative e salutistiche, e per definire le proprietà organolettiche espresse dai sapori e dagli aromi.

I valori dei parametri chimici sono rientrati nei limiti che certificano la classe merceologica dell'olio extravergine di oliva. Acidità e perossidi sono piuttosto contenuti in funzione della qualità della materia prima, degli interventi agronomici e delle tecnologie. La composizione degli acidi grassi, molto stabile, rientra nei limiti imposti dalla normativa Reg CEE 2568/91 per la categoria degli oli vergini di oliva.

La frazione lipidica (Tab. 2) più importante, ossia quella costituita dagli acidi grassi mono e poli insaturi è soddisfacente. Le caratteristiche salutistiche espresse da bifenoli e tocoferoli, garantiscono all'olio una buona qualità dal punto di vista nutrizionale.

Acidi grassi	Valori medi %
Palmitico	14,24
Oleico	65,09
Linolenico	0,67
Stearico	2,88
Linoleico	13,33
Altri	3,81

Tab. 2 - Valori medi in (%) della frazione lipidica

Sono stati apprezzate le caratteristiche cinestetiche di finezza e di fluidità del prodotto e alla valutazione sensoriale è stato rilevato, in generale, un gusto armonioso e non aggressivo, con medio aroma di fruttato maturo, di mandorla dolce e nuances vegetali (orticole).

Caratteristiche fisico-chimiche dell'olio

I ricercatori dell'IFAC del CNR di Sesto Fiorentino hanno utilizzato strumentazione a fibre ottiche per convalidare la provenienza geografica di tre oli (due del Getsemani per gli anni 2010 e 2011 e uno di Taybeh/Efraim), confrontandoli con campioni di oli di origine toscana.

La metodologia impiegata è la spettroscopia di assorbimento in luce diffusa, nella quale si misura la riduzione di luminosità causata dall'inserimento del campione all'interno di una sfera integratrice.

Lo spettro di assorbimento di ogni campione riflette la sua peculiare composizione chimica e rappresenta il suo "fingerprint".

Le analisi hanno confermato che le caratteristiche chimico-fisiche di due oli del Getsemani (2010 e 2011) e di quello di Taybeh/Efraim, sono sufficienti per rafforzare la provenienza geografica particolare.

Valutazione dell'ambiente eco-fisiologico

Lo studio è stato condotto per accertare la composizione in elementi, i più importanti macro- e micro- nutrienti e alcuni elementi non essenziali, delle piante in studio e compararla ai limiti di carenza, normalità o eccesso proposti da Marschner (1995) e da Kabata- Pendias & Pendias (2001) ed alla composizione del terreno del "Giardino del Getsemani".

Nello specifico, con analisi di spettroscopia ad assorbimento atomico è stata valutata la concentrazione media di calcio e magnesio (macronutrienti), rame, manganese, ferro, nichel e zinco (micronutrienti), cadmio, cobalto, cromo e piombo (elementi non essenziali), sia in diversi tessuti vegetali (*foglie, fusto, radici, polpa del frutto e nocciolo*) sia nel terreno, prelevato nella zona della rizosfera a 30-40 cm di profondità. Nei campioni di suolo sono state analizzate sia la frazione totale di elementi che quella disponibile, ovvero realmente assorbibile da parte della pianta.

Per quanto riguarda la frazione totale di elementi presenti nel suolo, i risultati mostrano che la soglia di tossicità è superata da cadmio, piombo e zinco. Gli altri elementi rientrano invece nei limiti o sono addirittura presenti solo in tracce.

Le concentrazioni di elementi presenti nella «frazione disponibile» sono risultate sotto il limite di detenzione per cadmio, cobalto, cromo, nichel e piombo, mentre gli altri elementi, tranne calcio e magnesio, sono risultati presenti in minima quantità. I dati riguardanti la concentrazione degli elementi nelle foglie (Tab. 3) hanno mostrato che gli elementi non essenziali (cadmio, cobalto, cromo e piombo) non sono presenti in quantità rappresentative e non determinano quindi un eventuale fattore di tossicità per la pianta. Anche se le concentrazioni totali di alcuni di tali elementi avevano superato i limiti di tossicità per i suoli, i dati riguardanti la frazione effettivamente disponibili e per l'assorbimento da parte della pianta avevano già suggerito che tali metalli fossero strettamente immobilizzati nel terreno e quindi presenti in forma non tossica. Per quanto riguarda invece gli elementi essenziali, alcuni sono stati ritrovati in quantità adeguate (calcio e magnesio), altri in quantità eccessive (ferro) e alcuni sotto la soglia di carenza (rame, manganese, nichel e zinco). Le piante sembrano quindi trovarsi in presenza di stress da eccesso di ferro e da carenza di rame, manganese, nichel e zinco al di là dei loro valori sopra o sottosoglia presentati dai terreni. Si prospetta quindi raccomandabile una somministrazione di solo questi ultimi micronutrienti durante le pratiche di concimazione di queste piante. Nei fusti e nelle radici si è ripetuta una situazione abbastanza analoga alle foglie per quanto riguarda l'assenza degli elementi non essenziali, che quindi non sono stati proprio assorbiti dalla pianta, probabilmente in relazione alla loro scarsa presenza nella frazione disponibile.

Elemento	Carenza	Normalità	Eccesso
Calcio		●	
Cadmio		●	
Cobalto		●	
Cromo		●	
Rame	●		
Ferro			●
Magnesio		●	
Manganese	●		
Nichel	●		
Piombo		●	
Zinco	●		

Tab. 3 - Quantità di metalli contenuti nelle foglie

Gli altri elementi hanno mostrato valori più o meno alti di quelli delle foglie a seconda dell'entità della loro traslocazione. Gli

elementi non essenziali sono stati assenti anche nella polpa e nel nocciolo delle olive, dato abbastanza prevedibile in base alla loro assenza nel resto della pianta, ma che sicuramente conforta per quanto riguarda la futura produzione di un olio che non contenga tali elementi tossici.

Gli ioni essenziali, sia macro che microelementi, sono invece stati ritrovati in rappresentative quantità in tali parti della pianta, per le quali però non esistono soglie di criticità. Quindi è raccomandabile un loro monitoraggio nell'olio prodotto in quanto anche i metalli devono rientrare in alcuni limiti di ammissibilità.

Bibliografia

- Baldoni L., Cultrera N.G.M., Mariotti R., Ricciolini C., Arcioni S., Vendramin G.G., Buonamici A., Porceddu A., Sarri V., Ojeda M.A., Trujillo I., Rallo L., Belaj A., Perri E., Salimonti A., Muzzalupo I., Casagrande A., Lain O., Messina R., Testolin R., 2009. A consensus list of microsatellite markers for olive genotyping. *Mol. Breed.*, 24 (3): 213-231
- Stuiver M., Polach HA., 1977 Discussion: reporting of ¹⁴C data *Radiocarbon* 19, 355-63
- Bernabei M., Quarta G., Calcagnile L., Macchioni N., 2007. Dating and technological features of wooden panel painting attributed to Cesare da Sesto. *Journal of Cultural Heritage*, 8: 202-208.
- Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 889 ppg. Ed. Academic Press, San Diego, CA
- www.oleadb.it/

Francesco Marino, agronomo, Presidente AgronomiperlaTerra;

Giovanni Gianfrate, agronomo, Associazione Culturale "COLTIVIAMO LA PACE" Firenze;

Antonio Cimato, Istituto per la Valorizzazione del Legno e delle Specie Arboree; Consiglio Nazionale delle Ricerche; Sesto Fiorentino (Firenze);

Raffaele Testolin, Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine;

Mauro Bernabei, Istituto per la Valorizzazione del Legno e delle Specie Arboree; (Ivalsa) Consiglio Nazionale delle Ricerche; San Michele all'Adige (Trento);

Alberto Materazzi, Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali, Università di Pisa;

Stefania Tegli, Dipartimento di Biotecnologie Agrarie Università di Firenze;

Cristiana Giordano, Istituto di Chimica dei Composti OrganoMetallici (Centro di Microscopie Elettroniche);

Angelo Cichelli, Dipt. di Merceologia Facoltà di Economia Università "G. D'Annunzio" di Chieti-Pescara;

Anna Grazia Mignani, **Leonardo Ciaccheri**, Istituto di Fisica Applicata 'Nello Carrara' Consiglio Nazionale delle Ricerche; Sesto Fiorentino (Firenze);

Sara Pignattelli, **Cristina Gonnelli**, Laboratorio di Ecologia e Fisiologia Vegetale Dipartimento di Biologia Evoluzionistica "Leo Pardi", Università degli Studi di Firenze.



Cultivare l'Olivo

Le varietà, le forme di allevamento, le cure dall'impianto alla produzione dell'olio
Pierluigi Villa - De Vecchi edizioni

Tutti i consigli per coltivare e far fruttare una delle piante più tipiche dell'area mediterranea e la cui coltivazione non è affatto semplice.

[Acquista online >>>](#)